



普通高等教育“十一五”国家级规划教材

# 微生物遗传育种学

主 编 廖宇静  
副主编 张利平 谢响明 霍乃蕊  
编 者 刘宏生 吕志堂 卫亚红  
张秀敏 卢雪梅



气象出版社

China Meteorological Press

## 内 容 提 要

本书是普通高等教育“十一五”国家级规划教材的专业教材。全书共分10章,简述了微生物遗传育种的发生、发展概况以及研究策略,详细地阐述了突变与重组的特点与机理,概述了病毒、细菌与放线菌和真菌的遗传原理与特点以及遗传学分析方法,详细地阐述了染色体外遗传的质粒特性、遗传机理和体外质粒构建的策略,简述了微生物基因组学的发生与发展概况以及微生物基因表达调控机理,详尽地阐述了微生物育种的方法与原理。本书内容新颖,资料翔实,层次清晰,是从事遗传学、微生物学、基因组学、分子生物学、生物化学等以微生物为研究材料的遗传学相关研究的科技工作者的高级参考书。本书既可以作为综合性大学、农林理工大学以及师范大学等院校的生物科学、生物技术、生物工程、制药工程、发酵工程等有关生命科学相关专业的本科生学习的基础教材,学习重点为前六章,后四章概略了解,了解未来研究动向,为研究生学习打下坚实基础;又可以作为研究生学习的专业教材,学习重点为后四章,由于研究生来源参差不齐,进入专业学习的基础内容可以通过自学方式进行补充,重点放在后四章是为研究动向、研究方法、研究策略等方面的学习,深入到专业领域的内部去,同时也可作为教师、研究生和科技工作者的参考书。

### 图书在版编目(CIP)数据

微生物遗传育种学/廖宇静主编. —北京:气象出版社,2010.8

普通高等教育“十一五”国家级规划教材

ISBN 978-7-5029-4951-8

I. ①微… II. ①廖… III. ①遗传育种-微生物遗传学-高等学校-教材 IV. ①S33

中国版本图书馆CIP数据核字(2010)第050351号

出版发行:气象出版社

地 址:北京市海淀区中关村南大街46号

邮政编码:100081

网 址:<http://www.cmp.cma.gov.cn>

E-mail:qxcsbs@263.net

电 话:总编室 010-68407112,发行部 010-68409198

责任编辑:崔晓军

终 审:黄润恒

封面设计:博雅思企划

责任技编:吴庭芳

责任校对:石 仁

印 刷 者:北京奥鑫印刷厂

开 本:787 mm×1 092 mm 1/16

印 张:42

字 数:1 075 千字

版 次:2010年8月第1版

印 次:2010年8月第1次印刷

印 数:1~3 000

定 价:88.00元

本书如存在文字不清、漏印以及缺页、倒页、脱页等,请与本社发行部联系调换

# 前 言

在当今基因组时代,生物科学蓬勃发展,而遗传学又是生物科学发展和深入的前沿学科之一,在环境日益恶化的当今,微生物遗传育种学更是为合理利用生物资源,为人类的可持续发展提供了一个全新的视角,随着生物科学的新方法、新技术、新理论层出不穷,在当今生物科学的世纪,笔者潜心研究国内外同类教材,集国内外同类教材的优势,精心汇编了这本微生物遗传育种学,本书耗费了笔者多年的心血,在编写过程中汇集了同行所有的教学科研心得,使本教材更加丰富和完整,为适应本世纪人才发展需要,笔者努力做到知识体系构架完整,概念清晰,阐述简明,理论充实,应用全面,从20世纪初叶到20世纪40年代,微生物遗传育种学走过漫长的诞生之路,从成为独立学科之后到现在历经了几十年的征途,微生物遗传育种学已经发展成为技术完整,理论充实、应用广泛的基础性应用性学科,笔者注意理论联系实际,学以致用,努力让读者在枯燥的理论中了解微生物正以一种人类并不十分熟悉的姿态影响着地球和人类,希望读者从科学发展观的视角出发,科学的、客观的、合理的、有限的、能动的利用微生物资源。

本书构架分为10章,第1章前言简述了微生物遗传育种学的发生、发展以及未来微生物遗传育种学的研究方向;第2章微生物突变详述了遗传物质突变与修复的特点和机制;第3章遗传重组和转座;阐述了遗传物质重组理论类型与机制,重点叙述了同源重组与转座重组的类型与特点;第4章病毒遗传重组体制;阐述了病毒遗传的特点、原理及遗传分析方法;第5章细菌与放线菌遗传重组体制,概述了细菌、放线菌和古菌的遗传特点、机理及遗传学分析方法;第6章真菌遗传重组体制简述了不同类型的真菌遗传特点、原理及遗传学研究方法;第7章质粒,重点阐述了质粒的类型与特点、质粒特性与遗传机理、质粒研究方法以及人工质粒构建类型;第8章基因与微生物基因组学;简述了基因与微生物基因组的发展简史、原核微生物基因组与真核微生物基因组的特点以及微生物基因组学的研究策略和基本方法;第9章微生物基因表达调控,从DNA水平、转录水平和翻译水平分别叙述了原核生物与真核生物的不同表达调控方式;第10章微生物育种从杂交、诱变和基因工程辅助手段阐述了微生物育种的形式、特点和方法。全书以变异为主线,以不同类型的遗传体制反映出生物遗传的多样性,以基因、基因组与基因表达调控汇集生物遗传的系统性与统一性;以理论用于实践汇总于育种研究,构成了这本知识体系较完整,资料较充实的微生物遗传育种学,本书不同于其他教材之处:一是加入了微生物基因组学一章的内容,尽管国内外已经出版了几本微生物基因组学,那些教材不太适合于初学者;二是理论联系实际,学理论的同时加强了应用,尤其在微生物育种中对于其方法原理及操作进行了详细的阐述;三是力图构建系统生物学的框架,从遗传与变异主线,说明生物的演变特征,各个章节分别讲述了其代表菌种的基因组特征,汇集于第8章分别说明了原核生物与真核生物的基因组特征以及研究策略。

本教材适合于生物技术、生物工程、生命科学、应用生物技术、发酵工程、医学微生物学等专业的本科生和研究生使用;为了培养学生的自学能力在每一章节开头都有导读,从引入问题着手,进行讲解,由于本教材是属于基础专业教材,应用面受到一定的限制,加之多数编者都是本科生和研究生的指导导师,如果学生需要考研者,需要了解未来专业方向的发展与应用研究前景,针对本科而言适合于以前六章作为重点教学章节,后四章引导了解,激发学

生主动学习的积极性,本书努力把握并反映微生物遗传育种学研究的最新成果及发展趋势,为考研者提供一个启发性的思路,减少考研的盲目性;针对研究生而言,以后四章学习为重点,但是由于入校后研究生水平参差不齐,很多学生没有遗传学基础,更不要说微生物遗传基础,希望研究生能够通过自学和导师辅导等形式尽快补上过去遗漏的知识点。本书每个章节都附有本章导读,其目的是便于学生自学,学习是一种能力,这种能力不完全是老师教出来的,更多的是需要学生完成自觉学习、习惯学习的自我训练,本教材希望努力引导学生做到这一点,希望通过导读、正文,学生学会归纳总结并进行思考,以不同的学习形式提高学生的积极性与学习兴趣,增强学生的专业理解能力。

本书在编写过程得到了所有副主编和参编老师的支持。其中河北大学的张利平副主编参与了第10章的修订,并在第10章微生物育种中对杂交育种部分进行了翔实的补充;张利平副主编与笔者最终共同完成了第10章的定稿工作;北京林业大学的谢响明副主编参与了第4章与第8章的修订,本书特色章节第8章的修订过程中,辽宁大学的刘宏生教授也参与了其修订,谢响明副主编、刘宏生教授与笔者共同完成了第8章的定稿;山西农业大学霍乃蕊副主编参与了第2章和第9章的修订,尤其是霍老师认真负责的态度与高超的外文能力为这两个章节补充了国外的最新动态,使这两个章节更加完善,霍乃蕊副主编与笔者共同完成了第2章与第9章的定稿修订;河北大学的吕志堂老师和张秀敏老师分别参与了第7章和第5章的修订,吕老师对人工构建质粒部分按要求进行了补充,吕志堂老师与笔者共同完成了第7章的定稿;张秀敏老师对第5章中的古菌进行了适当补充,与笔者共同完成第5章的定稿;西北农林科技大学的卫亚红老师参与了第6章的修订,对真菌基因组资料进行了部分补充,与笔者共同完成第6章的定稿;山东大学卢雪梅老师参与了本书的校稿工作。上述各位老师的扎实的理论功底及丰富的教学经验,让编著者获益匪浅;与各位同仁的理论探讨,也对编著者有莫大的启发,这对于完善本书的体系结构,丰富本书的主干内容都有极大的帮助。本书的编著者都是长期在高校从事遗传学与微生物学及相关学科的教学、科研工作者,积累了丰富的教学、科研经验。本书先由主编完成全书40万字初稿编写,经教育部高教司组织专家评审通过后,主编又根据原有初稿与所有参编人员反复讨论确定现有大纲构架,再分别由各位老师按大纲构架编写,最后由主编按大纲体系整合主编原稿与参编者的稿件,并统一修改润色,经主编三次修改完成定稿。成书前,河北大学的张利平教授,针对责任编辑提出的问题,对全稿进行了仔细审订。

在本书付梓出版之际,要特别感谢西南大学有关领导以及教务处、教材科和农学与生物科技学院领导们的大力支持,另外要特别感谢河北大学,是他们争取到河北省生物学强势特色学科建设经费的资助,使本书能够顺利出版,总之,没有他们的支持和帮助,本书就不可能出版。最后,要感谢气象出版社的领导与编辑朋友们,没有他们的帮助,此书也不可能出版。

微生物遗传育种学内容极为丰富,该领域浩瀚精深,随着当代科学技术的迅猛发展,微生物遗传育种学的应用范围日益深广,但由于受教学课时的限制,本书不可能包罗万象,在编写过程中,对章节内容进行删减增补时,有许多最新的科研成果及信息不得不忍痛割爱。在新世纪,微生物遗传育种学领域的研究及成果日新月异,加之编者水平所限,书中疏漏和错误在所难免,衷心期待读者批评、指正,以使本书更臻完善。

廖宇静

2009年7月于西南大学

# 目 录

## 前言

第1章 绪论	(1)
本章导读	(1)
1.1 微生物遗传育种学的发生与发展	(1)
1.1.1 微生物研究的重要性	(1)
1.1.2 微生物遗传育种学的发生	(2)
1.1.3 微生物遗传育种学的发展	(3)
1.1.4 微生物遗传育种学的地位与作用	(7)
1.2 遗传物质的结构与复制	(9)
1.2.1 DNA 结构	(9)
1.2.2 DNA 复制	(14)
1.3 微生物特点与优越性及微生物遗传育种研究方法应用	(18)
1.3.1 微生物特点与优越性	(18)
1.3.2 细胞培养技术的应用	(20)
1.3.3 突变与诱变筛选技术的应用	(20)
1.3.4 显微镜观察技术	(20)
1.3.5 合成培养基的应用	(21)
1.3.6 液体培养技术的应用	(21)
1.3.7 体细胞融合和体细胞杂交技术的应用	(21)
1.3.8 质粒研究技术	(22)
第2章 微生物的突变与修复	(23)
本章导读	(23)
2.1 突变概述	(23)
2.1.1 突变	(23)
2.1.2 突变的划分	(24)
2.2 突变特点	(30)
2.2.1 基因突变的性质或特点	(30)
2.2.2 微生物突变的常见类型与菌株	(32)
2.2.3 抗药性突变的特点	(35)
2.2.4 抗药性产生的遗传机理	(35)
2.2.5 抗药性突变的区分	(37)
2.2.6 微生物的基因符号与命名规则	(38)
2.3 突变的分子机理	(40)

2.3.1	自发性损伤(自发突变)·····	(41)
2.3.2	诱发突变·····	(44)
2.3.3	突变热点·····	(59)
2.3.4	DNA分子的位点专一性诱变·····	(60)
2.3.5	诱发作用与人类癌症·····	(60)
2.4	突变修复·····	(71)
2.4.1	直接回复修复·····	(72)
2.4.2	切除修复·····	(74)
2.4.3	错配修复·····	(76)
2.4.4	重组修复·····	(77)
2.4.5	交联修复·····	(78)
2.4.6	双链断裂修复·····	(81)
2.4.7	SOS修复·····	(84)
2.4.8	电离辐射损伤修复·····	(88)
<b>第3章</b>	<b>遗传重组与转座</b> ·····	<b>(90)</b>
	本章导读·····	(90)
3.1	重组分类·····	(90)
3.2	同源重组机制·····	(92)
3.2.1	同源重组模型·····	(92)
3.2.2	基因转变及分子机制·····	(95)
3.2.3	细菌同源重组·····	(97)
3.2.4	酿酒酵母的同源重组·····	(102)
3.3	位点专一性重组·····	(104)
3.3.1	<i>att</i> 位点·····	(104)
3.3.2	位点专一性蛋白因子·····	(105)
3.4	异常重组·····	(107)
3.4.1	末端连接·····	(107)
3.4.2	链滑动·····	(108)
3.5	转座重组·····	(109)
3.5.1	插入序列·····	(109)
3.5.2	非复制性复合转座子·····	(112)
3.5.3	复制性复杂转座子 TnA·····	(115)
3.5.4	接合型转座子·····	(118)
3.5.5	转座噬菌体·····	(119)
3.5.6	非复制保守型转座子·····	(121)
3.5.7	转座作用的遗传学效应·····	(122)
3.6	真核微生物转座子·····	(123)
3.6.1	丝状真菌转座子·····	(124)
3.6.2	酵母转座子·····	(127)

<b>第 4 章 病毒遗传重组体制</b> .....	(131)
本章导读.....	(131)
4.1 噬菌体 .....	(133)
4.1.1 噬菌体的繁殖 .....	(134)
4.1.2 噬菌体突变型 .....	(140)
4.1.3 噬菌体感染特性的研究方法 .....	(142)
4.1.4 噬菌体的遗传分析 .....	(144)
4.2 $\lambda$ 噬菌体 .....	(153)
4.2.1 $\lambda$ 噬菌体基因组 .....	(153)
4.2.2 $\lambda$ 噬菌体操纵子及调控区 .....	(155)
4.2.3 $\lambda$ 噬菌体基因组表达 .....	(156)
4.2.4 溶源途径 .....	(158)
4.2.5 溶菌途径 .....	(161)
4.2.6 溶源与溶菌途径和寄主基因表达的关系 .....	(166)
4.3 反转录病毒 .....	(167)
4.3.1 反转录病毒及其生活史 .....	(167)
4.3.2 反转录病毒粒子结构特征 .....	(170)
4.3.3 反转录病毒基因组 .....	(171)
4.3.4 反转录病毒的复制、整合、表达 .....	(172)
4.3.5 反转录病毒的作用 .....	(177)
4.3.6 常见反转录病毒 .....	(177)
4.4 常见动植物病毒 .....	(180)
4.4.1 黄瓜花叶病毒 .....	(181)
4.4.2 水稻矮缩病毒 .....	(181)
4.4.3 花椰菜花叶病毒 .....	(185)
4.4.4 流感与禽流感病毒 .....	(189)
4.4.5 肝炎病毒 .....	(194)
4.4.6 冠状病毒(SARS) .....	(200)
<b>第 5 章 细菌与放线菌遗传重组体制</b> .....	(205)
本章导读.....	(205)
5.1 大肠杆菌的接合作用 .....	(206)
5.1.1 基因重组的发现与证实 .....	(207)
5.1.2 接合分析 .....	(209)
5.1.3 F 因子与大肠杆菌的性别 .....	(211)
5.1.4 部分二倍体与交换 .....	(215)
5.1.5 中断杂交试验与连锁分析 .....	(215)
5.1.6 性导 .....	(217)
5.1.7 基因重组 .....	(218)
5.1.8 大肠杆菌的基因组 .....	(220)



5.2 转化作用 .....	(223)
5.2.1 转化与发现 .....	(223)
5.2.2 转化因子 .....	(223)
5.2.3 转化过程 .....	(224)
5.2.4 转化的效率因素 .....	(227)
5.2.5 转化在遗传学分析中的应用 .....	(228)
5.3 转导作用 .....	(230)
5.3.1 转导与发现 .....	(230)
5.3.2 转导过程 .....	(231)
5.3.3 转导类型 .....	(231)
5.4 放线菌遗传学 .....	(239)
5.4.1 链霉菌基因重组的发现与研究概况 .....	(241)
5.4.2 放线菌细胞结构与繁殖 .....	(241)
5.4.3 链霉菌染色体与基因组 .....	(242)
5.4.4 放线菌的类型 .....	(247)
5.4.5 放线菌的致育因子 .....	(248)
5.4.6 线性质粒和线性染色体的复制与转移 .....	(251)
5.4.7 放线菌的接合和接合机制 .....	(252)
5.4.8 链霉菌的遗传分析方法和基因连锁作图 .....	(257)
5.4.9 放线菌重组与原生质体融合 .....	(261)
5.5 古菌 .....	(263)
5.5.1 古菌简介 .....	(263)
5.5.2 古菌的遗传学研究 .....	(268)
5.5.3 古菌探讨 .....	(270)
<b>第6章 真核微生物遗传重组体制</b> .....	(273)
本章导读 .....	(273)
6.1 顺序四分体的遗传学分析 .....	(274)
6.1.1 粗糙脉孢菌的生活史 .....	(274)
6.1.2 粗糙脉孢菌染色体基因组和线粒体基因组 .....	(275)
6.1.3 粗糙脉孢菌有性杂交的四分体遗传分析 .....	(276)
6.1.4 丝状真菌的转化及其特点 .....	(285)
6.2 非顺序四分体遗传学分析 .....	(287)
6.2.1 构巢曲霉生活史 .....	(287)
6.2.2 构巢曲霉基因组 .....	(288)
6.2.3 构巢曲霉的遗传分析 .....	(288)
6.2.4 其他真菌基因组研究简介 .....	(291)
6.2.5 担子菌纲与黏菌纲真菌的染色体及基因组研究简介 .....	(296)
6.3 准性生殖 .....	(298)
6.3.1 准性生殖概念 .....	(298)



---

6.3.2	准性生殖的发现 .....	(298)
6.3.3	准性生殖过程 .....	(299)
6.3.4	有丝分裂定位 .....	(304)
6.3.5	连锁群判断 .....	(307)
6.3.6	准性生殖与有性生殖的区别 .....	(308)
6.4	酵母菌 .....	(309)
6.4.1	酵母菌生活史 .....	(309)
6.4.2	酵母菌基因组 .....	(311)
6.4.3	酵母菌染色体 .....	(315)
6.4.4	酵母接合型 .....	(319)
6.4.5	酵母接合型的转变 .....	(323)
<b>第7章</b>	<b>质粒遗传</b> .....	<b>(332)</b>
	本章导读 .....	(332)
7.1	质粒概述 .....	(332)
7.1.1	质粒的发现 .....	(333)
7.1.2	质粒的命名规则 .....	(333)
7.2	质粒的种类 .....	(334)
7.2.1	致育质粒 .....	(334)
7.2.2	抗性质粒 .....	(334)
7.2.3	抗菌素质粒 .....	(336)
7.2.4	降解质粒 .....	(337)
7.2.5	致病性质粒 .....	(339)
7.2.6	毒素质粒 .....	(342)
7.2.7	共生固氮质粒 .....	(344)
7.2.8	代谢型质粒 .....	(344)
7.2.9	隐蔽质粒 .....	(345)
7.3	细菌质粒的特性 .....	(345)
7.3.1	质粒的复制 .....	(345)
7.3.2	质粒的不亲和性 .....	(352)
7.3.3	质粒的稳定性 .....	(353)
7.3.4	质粒的转移 .....	(357)
7.3.5	质粒的宿主 .....	(360)
7.4	质粒的研究方法 .....	(362)
7.4.1	质粒的检测 .....	(362)
7.4.2	质粒的分离 .....	(365)
7.4.3	质粒的纯化与鉴定 .....	(366)
7.4.4	质粒的大小 .....	(370)
7.4.5	质粒的数量 .....	(371)
7.5	真核微生物质粒遗传 .....	(372)

7.5.1	丝状真菌质粒 .....	(373)
7.5.2	线性质粒的遗传 .....	(375)
7.5.3	链孢霉线粒体遗传 .....	(375)
7.5.4	酵母小菌落遗传 .....	(376)
7.5.5	酵母菌中的质粒 .....	(378)
7.5.6	共生酵母菌 .....	(380)
7.6	人工改造质粒 .....	(381)
7.6.1	克隆载体 .....	(382)
7.6.2	表达载体 .....	(396)
7.6.3	测序载体 .....	(399)
7.6.4	整合载体 .....	(399)
<b>第8章 基因与微生物基因组学</b> .....		(400)
本章导读 .....		(400)
8.1	基因演变与作用 .....	(400)
8.1.1	基因概念及其发展演变 .....	(400)
8.1.2	DNA、基因结构与功能 .....	(404)
8.2	微生物基因组学概况 .....	(408)
8.2.1	基因组的大小和C值矛盾 .....	(409)
8.2.2	微生物基因组学研究概况 .....	(410)
8.2.3	基因组学工具——生物信息学 .....	(414)
8.2.4	基因组学研究的基本内容 .....	(415)
8.3	基因组学的一般研究技术 .....	(417)
8.3.1	基因组的分离与纯化 .....	(417)
8.3.2	建立克隆文库 .....	(418)
8.3.3	DNA片段序列测序 .....	(418)
8.3.4	物理序列图谱的建立 .....	(421)
8.3.5	基因组注释 .....	(423)
8.3.6	全基因组测序程序 .....	(427)
8.3.7	流感嗜血菌基因组 .....	(429)
8.4	微生物基因组 .....	(431)
8.4.1	原核生物基因组 .....	(431)
8.4.2	真核微生物基因组 .....	(436)
8.4.3	细胞器基因组 .....	(441)
8.4.4	基因演化与基因组挖掘 .....	(447)
8.5	常见微生物基因组 .....	(449)
8.5.1	病毒基因组 .....	(449)
8.5.2	细菌基因组 .....	(452)
8.5.3	放线菌基因组 .....	(457)
8.5.4	古菌嗜热甲烷杆菌基因组 .....	(459)

8.5.5 真菌基因组 .....	(461)
8.6 基因功能与调节 .....	(461)
8.6.1 蛋白质组学 .....	(461)
8.6.2 DNA 微阵列(DNA microarray)或 DNA 芯片(DNA chips) .....	(462)
8.7 微生物基因组的进化 .....	(462)
8.7.1 原核生物的进化及分类简史 .....	(462)
8.7.2 细菌基因组的进化 .....	(463)
8.7.3 病原菌和共生菌与宿主的协同进化 .....	(464)
<b>第9章 微生物基因表达调控</b> .....	(467)
本章导读 .....	(467)
9.1 DNA 水平表达调控 .....	(468)
9.1.1 基因重排 .....	(468)
9.1.2 基因倍增 .....	(469)
9.1.3 基因丢失 .....	(471)
9.2 染色质调节 .....	(472)
9.2.1 DNA 甲基化修饰与基因活化 .....	(472)
9.2.2 核小体结构与基因转录 .....	(473)
9.2.3 改构复合体与活性染色质形成 .....	(474)
9.3 转录调节的基础构件 .....	(479)
9.3.1 基因结构 .....	(479)
9.3.2 顺式作用元件 .....	(482)
9.3.3 反式作用因子及结构域 .....	(492)
9.4 转录过程调节 .....	(497)
9.4.1 转录因子与 RNA 聚合酶对转录的起始调节 .....	(497)
9.4.2 转录后加工调节 .....	(503)
9.4.3 转录终止和抗终止调节 .....	(513)
9.4.4 代谢产物对基因活性的调节 .....	(515)
9.4.5 葡萄糖效应对基因活性的调节 .....	(517)
9.5 翻译调控 .....	(517)
9.5.1 真核 K 序列与原核 SD 序列的翻译起始调控 .....	(517)
9.5.2 磷酸化修饰对翻译起始的调控 .....	(519)
9.5.3 RNA 的高级结构对翻译起始调控 .....	(520)
9.5.4 固定模式的差别表达与等量表达调节 .....	(521)
9.5.5 反义 RNA 调节 .....	(523)
9.5.6 翻译的自体调控 .....	(524)
9.5.7 $\sigma$ 因子更替的发育差别表达与热激应答调控 .....	(527)
9.5.8 酵母细胞稳定期和对数生长期的翻译调控 .....	(530)
9.5.9 信息素识别诱导调节 .....	(531)
9.5.10 应激反应 .....	(533)

9.6 基因表达模式类型 .....	(534)
9.6.1 双重控制的乳糖操纵子 .....	(534)
9.6.2 双启动子的半乳糖操纵子 .....	(537)
9.6.3 具有衰减作用的色氨酸操纵子 .....	(539)
9.6.4 双向控制的阿拉伯糖操纵子 .....	(541)
9.6.5 多重调节的组氨酸操纵子 .....	(543)
9.6.6 双组分调节系统 .....	(544)
9.6.7 肺炎克氏杆菌的固氮调控 .....	(545)
9.6.8 多启动子调控的操纵子 .....	(548)
9.6.9 基因家族的调控 .....	(548)
9.6.10 转录因子 HAP 对细胞色素 C 的转录调控 .....	(551)
<b>第 10 章 微生物育种与应用 .....</b>	<b>(553)</b>
本章导读 .....	(553)
10.1 微生物杂交育种 .....	(553)
10.1.1 微生物杂交育种 .....	(553)
10.1.2 微生物杂交育种基本步骤 .....	(554)
10.1.3 不同微生物类群杂交育种方法 .....	(554)
10.2 原生质体育种 .....	(565)
10.2.1 原生质体融合技术 .....	(565)
10.2.2 原生质体融合技术程序 .....	(566)
10.2.3 微生物原生质体再生育种 .....	(580)
10.2.4 微生物原生质体诱变育种 .....	(580)
10.2.5 微生物原生质体转化育种 .....	(582)
10.3 微生物诱变育种 .....	(582)
10.3.1 微生物诱变育种的作用 .....	(582)
10.3.2 诱变育种基本程序 .....	(583)
10.3.3 出发菌株的选择 .....	(584)
10.3.4 单孢子(或单细胞)悬液的制备 .....	(586)
10.3.5 诱变处理 .....	(587)
10.3.6 中间培养 .....	(591)
10.3.7 突变株的浓缩与分离筛选 .....	(591)
10.3.8 生长菌产物活性鉴定 .....	(604)
10.3.9 摇瓶数据的调整和有关菌株特性的观察分析 .....	(605)
10.3.10 诱变剂致癌性检测 .....	(606)
10.4 微生物基因工程 .....	(609)
10.4.1 基因工程的概念 .....	(609)
10.4.2 基因工程的基本步骤 .....	(610)
10.4.3 基因工程的基本要素 .....	(611)
10.4.4 重组 DNA 分子的构建 .....	(619)

---

10.4.5	转化的方法	(619)
10.4.6	重组转化子的筛选和鉴定	(621)
10.4.7	基因工程诱变育种	(623)
10.5	微生物遗传育种学在现代生物技术中的应用	(629)
10.5.1	利用微生物进行发酵生产生物产品	(629)
10.5.2	利用微生物生产生物农药	(631)
10.5.3	利用微生物防治植物病害	(633)
10.5.4	利用微生物生产生物肥料	(634)
10.5.5	利用微生物净化环境	(637)
10.5.6	利用微生物使废料再生	(640)
10.5.7	利用微生物进行采矿	(641)
10.5.8	利用微生物生产抗体与疫苗	(642)
<b>参考文献</b>		(646)

德·瓦特郝斯(Harold Whitehouse)、李维斯·弗瑞斯(Lewis Frost)、庞蒂科尔(Pontecorvo)、霍普伍德(Hopwood)、塞蒙梯(Sermonti)等先后开展了对脉孢菌、构巢曲霉、链霉菌等的深入研究,发现了真菌重组、放线菌重组原理。这些研究工作使人们明确认识到微生物、动物和植物在遗传规律上的一致性,利用其基因重组原理开展了杂交育种的研究。从此遗传学研究便遍及任何一种生物。遗传学研究手段由此扩充,并推动了分子遗传学的发展。

④转化因子的化学本质鉴定。1928年格里菲思(F. Griffith)发现肺炎双球菌的转化现象,直到1944年艾弗里(O. T. Avery)鉴定了转化因子的本质,说明导致转化现象的物质是DNA,并证明了遗传物质是DNA,DNA的发现是1953年DNA分子双螺旋模型的提出和分子遗传学发展的前奏。

⑤噬菌体遗传学研究的开展。1951年在鼠伤寒沙门氏菌营养缺陷型上,发现了转导作用;1962年提出了 $\lambda$ 噬菌体进行的特异性转导作用;在研究噬菌体这一最简单的生物过程中,不但了解了噬菌体本身的特性,而且也逐步揭示了寄主的遗传特性。噬菌体遗传学的研究不仅将遗传学规律推广到最简单的生物,而且温和噬菌体及它的转导作用的研究成为微生物遗传育种学、分子遗传学研究的有效手段。德尔布吕克(M. Delbrück)是这方面研究工作的先驱者。

⑥从青霉素的发现到链霉素的分离发展了抗生素工业。自1929年弗莱明(Fleming)发现青霉素以来,直到1943年链霉素之父阿尔伯特·沙茨(Albert Schatz)成功地分离了链霉素,并以此为基础开始了抗生素的工业生产,并推动了抗生素的深入研究,以诱变育种和杂交育种为基础的抗生素育种得到了快速发展。

⑦原生质体技术的建立与发展。原生质体研究始于19世纪初叶,1952年萨顿(Salton)用原生质体代表获得的植物和微生物原生质细胞,1953年唯布尔(Weibull)用溶菌酶处理巨大芽孢杆菌获得细菌原生质体,并提出原生质体概念,直到1955年迈克奇勒(Mcquillen)发现原生质体再生方法,从此奠定了原生质体分离技术,20世纪五六十年代原生质体分离技术得到了迅猛发展,原生质体作为新型杂交融合技术开始得到普及,直到20世纪70年代原生质体融合技术得到了飞速发展。

微生物分子遗传育种学发展时期,是在以DNA双螺旋发现为起点的分子遗传学时期诞生之后,随着基因工程崛起,利用微生物为材料,从遗传的分子机制到基因工程载体研究,从遗传学的各个领域为遗传理论提供了各种实验证据,在此基础上广泛开展了微生物的分子育种研究。这个时期的主要研究成果是:①揭示了基因的化学本质、基因的结构与组织;②阐明了突变的分子机理和突变的修复机制,解释了突变产生的原因;③诠释了重组产生的机制,通过不同的重组证据证明了四大重组假说;④揭示了质粒的本质与作用,为基因工程的推进奠定了坚实的基础;⑤通过基因定位的研究构建了遗传连锁图,建立了DNA序列分析技术;⑥基因工程技术的诞生,为基因工程应用奠定了基础,发展了DNA的体外合成和分离纯化技术,为人类定向突变奠定了基础。这些研究成果把微生物的研究技术成功地转向高等动植物的研究,致使分子遗传学的研究普及到各类生物的不同类群的研究中,随着20世纪70年代基因工程技术的发展、完善,分子遗传学的研究被推向了顶峰,基因工程育种和原生质体育种工作也得到了发展。

这其中,从20世纪60年代遗传密码的破译,到20世纪70年代中心法则的修改,这一阶段是经典分子遗传学向基因工程时代的过渡时期,以微生物作为遗传学的研究材料,主要是转录与翻译领域的研究取得了一些成果:1962年阿贝尔(W. Arber)和杜斯索西(D. Dussoix)发现了DNA的限制与修饰,查比维利(F. Chapeville)、李蒙纳(F. Lipmann)和

伊瑞斯特(G. Von Ehrenstein)发现 tRNA 所携带的氨基酸的特异性和 tRNA 与 mRNA 结合的特异性无关,吉瑞(A. Gierer)、瓦瑞尔(J. R. Warrur)及斯塔切林(Stachelin)三个课题组分别发现了多核糖体。1963年,孟诺德(J. Monod)、嵌根(J. P. Changeux)和雅各布(F. Jacob)提出了蛋白变构理论。1964年建立了基因与蛋白质的共线性关系,破译了全部有义密码子,提出 DNA 重组模型。1965年发表了酵母丙氨酸 tRNA 的完整序列,发现了终止密码子 UAG 和 UAA。1966年建立了 *E. coli* 遗传图谱的遗传方向,提出了反密码子的摆动假说,分离纯化了 *lac* 阻抑物,发现各种蛋白质的合成的起始氨基酸都是甲酰-甲硫氨酸。发现了核糖体上的 P 位点和 A 位点,分离出连接酶,发现线粒体具有环状 DNA。1967年对溶菌酶进行晶体学研究,其分辨率达到 2 Å。1969年发展了原位杂交技术,用仙台病毒使人、鼠细胞融合。1970年发现了 RNA 反转录酶和限制性酶 I,发现传递信号的 G 蛋白及其功能,人工合成了酵母丙氨酸 tRNA 的基因。

20世纪70年代随着基因工程的崛起,遗传学进入了基因工程发展的快车道,基因分离合成技术和细胞分离融合技术得到了快速发展,并普及到原核生物和真核生物的研究中,直到20世纪90年代克隆“多莉”的出现,人们才如梦初醒:遗传学的研究技术已经成功地应用到高等动物研究中。这个阶段取得的主要成果有:1971年绘制了第一张限制性内切酶图谱,并鉴别出费城染色体是22号染色体缺失了1/3而形成的。1972年创建了DNA体外重组技术。1973年首次在体外构建了具有功能的细菌质粒。1974年一批著名的科学家提出暂缓进行体外重组倡议书。1975年建立了DNA印迹技术、菌落膜上杂交技术、高分辨双向蛋白电泳技术、单克隆抗体制备技术。1976年证实了免疫球蛋白形成的体细胞重组学说,发现了鸟类肉瘤病毒中含有癌基因,并首次用分子杂交技术用于地中海贫血遗传病的产前诊断。1977年发现了基因中的外显子与内含子,提出了断裂基因的新概念,建立了DNA的化学测序法及DNA测序的“加”、“减”法,即酶法。1978年首次将真核基因(*dhfr*)在细菌中表达,建立了装配型载体,克隆了DNA大片段,建立了定点突变技术,发现了四膜虫端粒的串联重复顺序。1979年进行限制性片段长度多态性的研究,提出了Z-DNA模型。1980年用限制性片段长度的多态性构建人类遗传学连锁图。1981年发现了四膜虫 rRNA 的自体拼接,发现了增强子,并首次将疱疹病毒的TK基因转移到小鼠中表达。1982年证实了癌基因中单个碱基的突变而引起肿瘤的产生。1983年建立了线虫胚细胞谱系,应用Ti质粒将基因转入植物,1983年启动了大肠杆菌基因组项目,于1995年完成。1984年发现果蝇同源异型盒及同源异型基因,建立了脉冲变角凝胶电泳技术,用于大片段DNA的分离。1985年建立了PCR技术进行体外扩增。1986年发现RNA编辑现象,对植物类病毒拟病毒提出了锤头结构模型。1987年构建了酵母的人工染色体YAC,鉴定了杜兴氏肌肉萎缩症突变基因的产物,用胚的干细胞(ES)进行制备转基因鼠取得成功,将HPRT突变基因导入小鼠,建立了尼-莱氏综合征的动物模型,分离了端粒酶。1988年研究了*Rb*抗癌基因的功能,启动了嗜血流感菌的测序工作。1989年报道了*E. coli*中甲酰-tRNA合成酶的结构与功能,酵母基因组始于20世纪80年代末期,完成于1996年。

微生物基因组时期是随着20世纪80年代部分微生物基因组研究工作的开展而启动的,如1983年大肠杆菌基因组项目、1988年嗜血流感菌基因组的测序等,到了20世纪90年代迎来了人类基因组计划的启动,从20世纪90年代以后微生物遗传育种学发展迎来了微生物基因组学的时代,1994年美国启动了微生物基因组计划,到2006年春季人类元基因



组计划的启动,把微生物研究又推向了一个新的历史高峰——微生物基因组研究的鼎盛时期。这期间,1990年建立了端粒的复制模型,克隆证实了人类和哺乳动物性别决定的主要基因是 *SRY/sry*,并启动了人类基因组计划(完成于2001年),并完成了全长230 kb的人类巨细胞病毒全序列的测序工作。1991年提出了RNA编辑的转酯反应模型。1992年揭示了p53的抗癌作用机制。1993年提出了长分散序列的反转录机制也是归巢的一种机制。1994年提出了“内蛋白质”的概念,提出了细菌复制叉上的复制体模型,1994年完成了第一个微生物基因组嗜血流感菌的测序工作,同时美国能源部启动了微生物基因组计划。1995年完成了生殖道支原体项目,随后完成了詹氏甲烷球菌、热自养甲烷杆菌、激烈火球菌以及 *Aquife aeolicus* VF5 真细菌等细菌的测序工作,发现了II类内含子的结构及剪接。1996年日本完成了光合蓝细菌集胞藻的物理图谱,笛特瑞奇(W. F. Dietrich)等绘制了小鼠基因组的完整遗传图谱,笛布(C. Dib)等在5264个微卫星的基础上绘制了人类完整的遗传图谱。1997年英国成功地克隆了绵羊“多莉”,把遗传学研究推向了发展的又一个高峰时期。到2000年人类基因组草图的公布,生物科学迎来了基因组时代。

在基因组时代的初期,1997年法国巴斯德研究所对革兰氏阳性枯草芽孢杆菌的测序,1998年瑞典乌普萨拉大学完成普氏立克次体基因组测序,由于微生物种类的多样性,微生物基因组计划正在以惊人的速度扩展,它的总投入和工作量都将超过人类基因组,它对人类产生的影响也将是难以估计的。

在21世纪的基因组时代中,2000年8月华盛顿大学基因组中心与病原学公司合作完成铜绿假单胞菌的测序工作。2001年2月11日六国(美、英、法、德、日、中)科学家完成了人类基因组31.7亿个碱基对的测序,同年10月中国宣布水稻基因组的测序全部完成。2002年国立过敏、传染病和人类病原体研究所资助了15种重要的人类病原菌的测序,正在资助和参与资助44种与人类健康相关的细菌、真菌和寄生虫的测序项目。英国桑格研究所到2002年9月完成了7种细菌基因组序列测序,正在进行的有5种真菌,包括裂殖酵母、烟曲霉、卡氏肺囊虫、白色念珠菌以及酿酒酵母。2002年1月美国能源部资助完成了6种古菌、8种真菌的基因组测序,10种真细菌测序完成但未发表,14种真细菌、2种古菌和1种真核生物测序草图已经完成。2003年中国西南农业大学完成家蚕基因组框架图谱,美国破译冠状病毒基因组,2004年美国对流感病毒与禽流感病毒H5N1进行了系统的比较分析,2005年六国的部分生物科学家充分论证并于2006年春季启动了人类元基因组计划,人类元基因组计划被称为“人类第二基因组计划”,其规模和广度将远远超过人类基因组计划。“人类元基因组”是指人体内共生的菌群基因组的总和,包括肠道、口腔、呼吸道、生殖道等处的菌群。由于微生物代谢功能的丰富多样,人类元基因组计划有可能发现100多万个新的基因,其工作量至少相当于10个人类基因组计划。这对于阐明许多疾病的发生机理、研究新的药物、控制药物毒性等将发挥巨大作用。人类元基因组计划的目标是,把人体内共生菌群的基因组序列信息都测定出来,而且要研究与人体发育和健康有关的基因功能。科学家认为,人类基因组和人类元基因组这两本“天书”绘制完成后,将有助于更好地破解人类疾病。2006年8月启动了肿瘤基因组计划,随着肿瘤基因组研究的推进,将揭示人类癌症的产生机理,并提出癌症预防与治疗的新观念。

21世纪,由于基因组的破译与诠释,以功能蛋白为核心的后基因组时代迎来了蛋白质研究的新起点,尤其是新药开发也迎来了全新观念,人类对疾病的预防与治疗研究也将会有

很大的发展。随着基因组与后基因组研究的深入,基因组研究分化为功能基因组、结构基因组和比较基因组三个分支学科。微生物遗传育种学的发展必将为生物学的发展提供更多更好的实验证据,微生物学将成为生物学的前沿阵地,微生物的世界非常广阔,1 g 土壤中就含有 10 亿个微生物,1 L 水中就有数以百万计的微生物,其数量比人体细胞还要多。但是超过 99% 的微生物却是未知的,它们在自然生物-地球-化学循环方面起着很重要的作用,在去除污染物质方面扮演着重要的角色,而且它们为新药剂、新酶及其新的生物反应过程的开发提供了很大的潜力资源。对它们的研究可以扩展我们对生命的了解,包括了解生命如何耐受极端环境、新的生物能源、生命进化以及微生物与环境之间的相互作用。

微生物遗传育种学未来的研究方向包括三个方面:一是微生物的广度研究,主要包括微生物的生物多样性的范围;二是微生物的深度研究,主要包括微生物中每一个相对简单的细胞内成分是如何协调一致进行分化发育表达的,以及其表达机制和特点;三是相关性研究,主要包括微生物与高等动植物以及环境的相互作用的研究。用新方法探索生物的多样性;通过异常表达研究可能揭示新疾病产生的原因;极端微生物的耐受机制研究有可能诠释环境与微生物的关系;通过了解自然种群的生物地理学、生态学的交互作用、生物进化历程、基因组学演进特征以及细胞作用的研究促使人们认识到疾病与环境的相互作用是密不可分的。

#### 1.1.4 微生物遗传育种学的地位与作用

微生物是生物界中的一大类生物,与植物和动物共同组成生物界,包括细菌、放线菌、霉菌、酵母菌、螺旋体、立克次氏体、支原体、病毒、藻类等,是一群形体微小、构造简单的单细胞或多细胞生物,有的甚至没有细胞结构。根据微生物是否具有真正的细胞核结构与细胞结构特征可把其分为三大类:病毒、原核微生物和真核微生物。病毒是不具有细胞和细胞核结构,比原核生物更小的微生物,包括病毒和亚病毒;原核微生物是具有细胞结构但不具有完整细胞核的生物类群,包括细菌、放线菌、立克次氏体、支原体、衣原体、蓝细菌等;真核微生物是具有完整细胞和细胞核结构的生物类群,包括黏菌、真菌、霉菌、接合菌等。绝大多数微生物个体必须用显微镜甚至电子显微镜才能看到。微生物遗传育种学就是研究这类微小生物类群的遗传学分支学科。微生物遗传学在遗传学中所处的地位类似于一个桥梁的作用,它既是在经典遗传学的基础上发展起来的,又是在它自身的基础上发展成为分子遗传学的分支学科之一,微生物遗传育种学既不能替代经典的遗传育种学,又不能由分子遗传育种学所替代。人的体内生活着大量“亲密的陌生者”——人体微生物菌群,它们的组成和活动与人的生长发育、生老病死息息相关,微生物对于自然界的作用不亚于动植物的作用。研究表明,儿童自闭症、老年痴呆症等与肠道菌群有重要关系,人体肠道菌群里的一种芽孢杆菌数量占优势时,会分泌神经毒素,造成腹泻或对神经的侵害,儿童自闭症与此有直接关系;另外,人参皂甙是人参里面的有效成分,具有抗肿瘤的作用,但是大约有 20% 的人体内缺乏能够分解人参皂甙的肠道菌类,这些人服用人参皂甙是无效的。人体微生物种类至少是人体细胞数量的 10 倍,其重量是人体体重的 1/50~1/100,其微生物细胞数量是人体的 9/10,由于细胞体积很小,其重量仅在人体内约为几千克重。能够在实验室纯培养的人体微生物种类仅占人体微生物种类的 30% 左右,占世界上微生物总数的 1%~10%,自然界中微生物的作用是广谱的,还有很多领域是我们不太了解的,更有许多作用是我们完全无知的。